

Çerezlik Yer Fıstıklarında Aflatoksin Saptanması Üzerine Bir Araştırma

Araş. Gör. Işıl VAR — Doç. Dr. Bülend EVLİYA

Ç.Ü. Ziraat Fak. Tarım Ürünleri Teknolojisi Bölümü — ADANA

ÖZET

Çeşitli gıda ve yemler üzerinde gelişen küflerin oluşturdukları akut ve kronik toksisiteleleriyle dikkatleri çeken mikotoksinler arasında en yaygın olan ve üzerinde en çok çalışılan «aflatoksin»lerdir.

Bu çalışmada, ülkemizde sevilerek çokca tüketilen, ısıtılmış işlem görmüş ve piyasada satılan çerezlik yerfıstıklarının aflatoksin açısından durumlarının incelenmesi amaçlanmıştır.

Örnekler, Adana, Ankara, İstanbul ve Gebze'nin çeşitli semtlerindeki kuruyemiş imalathaneleri ile kuruyemiş satan yerlerden değişik tarihlerde alınmış, Tropik Ürünler Araştırma Enstitüsü (TPI), Londra, İngiltere) tarafından önerilen OB yöntemi uygulanmıştır. Bu örneklerde ince tabaka kromatografisi ile yapılan tayinlerde altı örnekte muhtemel aflatoksinlere rastlanmıştır. Ancak doğrulama deneyine cevap vermemiştir. Örneklerden ayrılan küflü taneler, de ise aflatoksin B₁, B₂, G₁ ve G₂ gözlenmiş, yalnız aflatoksin G₁ doğrulama deneyine cevap vermiştir.

Sonuç olarak, ülkemizde üretilen çerezlik yerfıstıklarında ortalama % 1 dolayında küflü tane bulunabildiği, küflenmenin tarla veya depolama sırasındaki kontaminasyon sonucu çiğ yerfıstıklarında olduğu söylenebilir.

Küflenme sonucunda aflatoksin oluşmasının söz konusu olduğu, ancak ısıtılmış işlem sırasında gerek küflerin ve gerekse aflatoksinlerin önemli ölçüde tahrip olduğu, böylece bulunabilecek aflatoksinlerin saptanmadığı veya şüpheli lekeler halinde saptanabildiği kanısına varılmıştır.

Ülkemizde tüketilen çerezlik yerfıstıklarında aflatoksinle ilgili bir sorunun olmadığı söylenebilirse de çiğ yerfıstıklarında aflatoksin durumunun ve kavurma işleminin aflatoksinler üzerine yaptığı etkilerin daha geniş bir şekilde araştırılması gerektiği görüşüne varılmıştır.

SUMMARY

Aflatoxins are among the most wide spread and widely researched mycotoxins produced by molds on various foods and feeds which attracts attention owing to their acute and chronic toxicities.

The main objective in this research work was to investigate the aflatoxin contents of thermally processed peanuts which are consumed a lot as an appetizer in our country.

The samples are obtained from the market in Adana, Ankara, İstanbul and Gebze on different dates and were analysed according to the OB method suggested by the Tropical Products Institute in London, England.

In the moldy grains, aflatoxin B₁, B₂, G₁ and G₂ was detected, but only aflatoxin G₁ gave positive confirming test.

As a result of molding, aflatoxin formation is inevitable, however molds and aflatoxins are mostly damaged as a consequence of thermal processing with dry salt. Hence, the small amount left in the samples after thermal treatment was not in detection limits, consequently the spots were difficult to identify.

Although it may be concluded that aflatoxin exhibits no problem in the processed peanuts consumed in Turkey, more detailed research work must be realised to find out the aflatoxin content of unprocessed peanuts and the effect of thermal processing on the aflatoxins.

1. GİRİŞ

Mikrobiyolojinin gelişmesine paralel olarak küf mantarları üzerinde çalışmalar başlamış, bu arada bakterilerin gelişmelerini önleyici bir takım metabolitleri de ürettikleri bulunmuştur. Bu buluşlardan sonra küf mantarlarından antibiyotik üretimi başlamış ve gelişmiştir. Bu arada küflenmiş ürünlerin de antibiyotik içerdiği, ilk kez 1960 larda İngiltere'nin doğu ve güney bölgelerindeki çiftliklerde 100.000 kadar hindi ve

ördek palazının ölümü Turkey-X adı verilen bir hastalığa bağlanmıştır. Ancak yapılan çalışmalar sonucunda ölümün kullanılan yemlerden ileri geldiği, yemlerde kullanılan yerfıstığı küspesinin *Aspergillus flavus* tarafından kontamine olduğu, bu küfün ise bir toksin ürettiği bulunmuştur. *Aspergillus flavus*'un ürettiği bu toksine de Aflatoxin adı verilmiştir (Sargeant ve ark., 1961).

Küf mantarlarının sekonder metabolitleri olan, insan ve hayvanlar üzerinde akut ve kronik toksisiteli mikotoksinler içinde aflatoksinler, doğal gıda kontaminantı olarak ilk bulunan ve üzerinde en yaygın çalışılmış olanıdır.

Başlangıçta *Aspergillus flavus* ve suşlarının ürettikleri bisfuranocumarin metabolitlerine Aflatoksinler denilmiş, yapılan çalışmalar *Aspergillus parasiticus*, *A. niger*, *A. ruber*, *Penicillium puberulum*, *P. citrinum* ve *P. variable*'nin de aynı metabolitleri yaptığı saptanmıştır (Heathcote ve Hibbert, 1978).

Aflatoksinler kuru koşullarda erime noktalarına kadar ısıtılmaya dayanıklı olup, erime noktası üzerinde bozulmaktadırlar. Ortamda nem bulunduğunda ise nem miktarı ve sıcaklığa bağlı olarak çeşitli parçalanmalar göstermektedir.

Dollear (1969), Aflatoksinleri 250°C'ye kadar ısıtmakla parçalanmalarına karşılık teknolojik ve analitik işlemlerden çok az etkilendiğini bildirmiştir.

Petterson (1978) ise bu parçalanmaların yüksek sıcaklık etkisiyle lakton halkalarının açılmasıyla oluşan dekarboksilasyondan ileri gelebileceğini belirtmiştir.

Tüm aflatoksinler kuvvetli oksitleyici ve alkali maddeler karşısında dönüşümsüz olarak değişmekte, su ve petrol eteri dışında kloroform, etanol, metanol, benzol ve dimetil sülfoksit gibi polar çözücülerde serbestçe çözünmektedirler (Kaya, 1982).

Yapılan toksikolojik araştırmalar deney hayvanlarında en çok etkilenen bölgelerin karaciğer olduğu bildirilmiştir (Allcroft, 1963) Hatta bir çok ülkelerde görülen karaciğer hastalıklarıyla karaciğer kanserleri aflatoksinlere bağlanmıştır (Duru ve Özgüneş, 1984).

Yerfıstığı taze olarak tüketildiği gibi çerezlik olarak kavrulduktan sonra da tüketilmektedir. Isıl işlemde tiamin hariç bütün öğelerin stabil kaldığı bildirilmiştir (Woodroof, 1973).

İçerdiği besin öğeleriyle mikroorganizmalar için uygun bir ortam oluşturan yerfıstığı meyve ve bitkileri, hasat, kurutma ve depolama aşamalarında *Aspergillus* çinsi küf mantarınca kolayca kontamine olabilmektedir. Ayrıca % 86 oransal nem ve 25-30°C sıcaklıkta hızla gelişebilen *Aspergillus*'lar için tropik, subtropik ve ılıman iklimin sıcak bölgelerinde yetişen yerfıstıkları ideal bir gelişme ortamı oluşturmaktadırlar (Diener ve Davis, 1977).

Sargeant ve ark. 1961 yılında ilk olarak Brezilya yerfıstıklarında aflatoksin izole etmişler ve doğal bulaşıklığı göstermişlerdir. Daha sonra birçok ülkede bu konuda çalışmalar yapılmıştır (Heathcote ve Hibbert, 1978).

1963 yılında da Kuzey Nijerya'da yerfıstığı tohumunda aflatoksin kontaminasyonu bildirilmiştir. Güney Afrika'da ise Sellschop ve ark., 1963-64 yılları arasında ekilen yerfıstıklarında yaptıkları bir araştırmada aflatoksin miktarını 2 ppm olarak bulmuşlardır.

Yine 1965 yılında, Asya, Afrika ve Latin Amerika'nın tropik bölgelerindeki yerfıstığı ezmesi ve küspesinin kontamine olduğu bildirilmiştir (Sreenivasamurthy ve ark., 1965).

1976 yılında da Di Prossima daha değişik bir çalışmada, kavrulmuş ve haşlanmış Virginya yerfıstıklarında normal olarak bulunması gereken B aflatoksininden 20 kat fazlasına kadar G aflatoksinlerinin bulunduğunu göstererek gıdalarda mutlaka B aflatoksinlerinin daha fazla bulunacağı ve yalnız B aranmasının yeterli olacağı düşüncesinin aksini ortaya koymuştur (Heathcote ve Hibbert, 1978).

Ülkemizde aflatoksinlere ait ilk çalışmalar özellikle iade edilen ihraç ürünleri esas alınarak çok çeşitli kuruluşlarda yürütülmüştür.

Çerez olarak tüketilen yerfıstıklarında zaman zaman küf ve tat kokusunun olması, zaman zaman da yüzey veya içlerinde küf spor veya misel parçalarının bulunması, bunların aflatoksin içerebilecekleri görüşünü gündeme getirmektedir.

Bu çalışmayla çerezlik olarak tüketilen yerfıstıklarında küflerin canlılık durumları, canlı olanların tanımlanması ile olası aflatoksin içeriklerinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. MATERYAL ve METOD

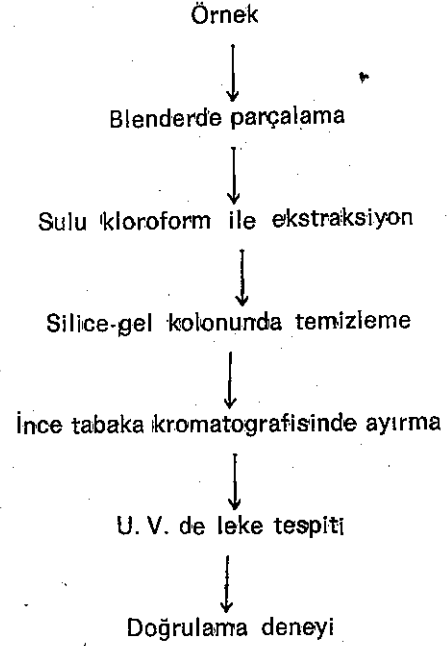
Bu araştırmada Adana, Ankara, İstanbul ve Gebze'nin çeşitli semtlerindeki kuruyemiş imalathaneleri ile kuruyemiş satan yerlerden değişik tarihlerde ve o anda satışa sunulan partiyi temsil edecek şekilde toplam 500'er gr'lık on-yedi adet örnek alınmıştır. Bunların yanında geri kazanma denemelerinde kullanılmak üzere Silifke'den bir tarladan çiğ yerfıstığı (1 nolu örnek), Adana'daki bir yemiş imalatçısından kavrulmuş kabuklu fıstık (16 nolu örnek) ile üç adet poşet içinde hazırlanmış yerfıstığı (9, 17 ve 18 nolu örnekler) ve iki adet de kavanozda yerfıstığı ezmesi (10 ve 19 nolu örnekler) örnek olarak kullanılmıştır. (Bkz: Çizelge 1).

Elde edilen örnekler laboratuvarında iyice karıştırıldıktan sonra 250'şer gr'lık iki partiye ayrılmıştır. Bir grup hermetikli kapanan kavanoza alınarak daha sonra 8 ve 26 nolu örnekleri oluşturmak üzere soğuk havada saklanmıştır. İkinci grup ise 100 ve üç 50 gr'lık olmak üzere dört gruba ayrılmış, 100 ve bir 50 gr'lık örneklerde fiziksel analizler, diğer iki 50 gr'lık örneklerde ise aflatoksin analizleri yapılmıştır.

Paçal örnekler oluşturulduktan sonra ayrılan küflü ve bozuk taneler de 27 nolu örneği oluşturmak üzere hermetikli kapanan bir kavanoza alınarak soğuk havada saklanmıştır.

Örnekler şekil 1'de ana hatları görülen ve aşamaları ayrı ayrı belirtilen CB metoduna (ANONYMOUS, 1982 b) göre analiz edilmişlerdir.

Araştırmada uygulanan CB yönteminin örneklerde aranan aflatoksinler hangi oranda ve hangi miktara kadar ayırabildiğini saptamak için Patterson (1978) tarafından önerilen yöntem uygulanmıştır.



Şekil 1. CB yönteminin uygulama şeması

Bu amaçla taze ve kavrulmuş yerfıstığı örneklerine 5-15 ug/kg arasında olacak şekilde standart aflatoksin katılmış, daha sonra ise CB yöntemi uygulanmıştır. Aynı oranlarda standartlarla ince tabaka kromatografisi ile ayırma yapılmış ve örnekler ile standartların leke büyüklükleri kıyaslanarak eşdeğerlikleri saptanmıştır. Örneğe katılan standart miktarı ile geri kazanılan miktar oranlanarak geri kazanma oranı ve tespit limiti bulunmuştur.

Örneklerimizde bulunan küflü tanelerdeki küflerin cinslerinin tespiti ile üreme durumları da araştırılmıştır. Bunun yanısıra örneklerdeki tuz miktarı ve nem tayinleri de yapılmıştır. Tuz miktarı Türk Standartlar Enstitüsünün TS-1881 (1975) de belirttiği yöntem uygulanmış ve gr olarak belirtilmiştir. Nem tayini ise Brabender tip 890100 nem tayin cihazında kullanma kitabında belirtildiği gibi parçalandıktan sonra 110°C de yapılmıştır (ANONYMOUS, 1974).

Örneklerden ayrılan 100 gr'lık gruplarda kırık ezik ve küflü olarak saptanan taneler ayrılarak tartılmış % gr. olarak belirlenmiştir.

3. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

Araştırmalarda sekiz adedi doğrudan kuru yemiş imalatçısı, dokuz adedi perakende kuru yemiş satan dükkan, üç adedi poşet içinde bir fabrikaya ait olmak üzere yirmiiki adet çerezlik yerfıstığı ile iki adet aynı fabrikaya ait iki kavaroş yerfıstığı ezmesi ve bir imalathaneye ait kabuklu kavrulmuş yerfıstığı kullanılmıştır. Ayrıca Aralık-1985 ve Ocak-1986 aylarında alınan ve Mart-Haziran-1986 aylarında alınan örneklerin paçalları ile Ocak-Haziran-1986 aylarında alınan örneklerden ayrılan küflü tanelerde de analizler yürütülmüştür.

Örneklerin organoleptik analizlerinde hemen tümü iyi görünümde bulunmuştur. Ancak bazı tanelerde yumuşaklık bazılarında ise hafif küf tat ve kokusu saptanmıştır. Ayrıca bir kısım örnekler de de ağızda aşırı tuzluluğa rastlanmıştır.

Poşet içinde ise görünüm iyi olmasına karşın acılaşmış yağ tadı sezilmiştir.

Çerezlik yerfıstığı örneklerinde nem oranı % 0.25 ile 5.4 arasında değişmiştir. Poşet içindeki örneklerde nem 0.25 ile 1.1 arasında değişirken açık örneklerde 1.4 ile 5.4 arasında değişmiştir.

Örneklerin tuz içerikleri incelendiğinde fabrikasyon poşet yerfıstıkları % 1.15 ile 2.0 arasında ve oldukça homojen bir değer göstermiştir. Oysa kuruyemiş imalathanelerinde gerek imalatçının zevki ve gerekse son tuzlamanın göz kararıyla yapılması tuz oranında da % 2.9 luk bir fark yaratmıştır.

Örneklerin küflülük durumuna bakıldığında ise üç örnek dışındaki tüm örneklerde az veya çok küf görülmüştür. Küfler tamamen kotiledonlar arasında ve embriyonun hemen üstünden başlamak üzere koyu kahve renkli ve siyah olarak belirlenmiştir. Tüm örneklerdeki küflü tane oranı % 0.15 ile 2.1 arasında değişmiştir. Küflülük durumu yüksek olan örneklerde aynı zamanda bozuk tane oranının yüksekliği dikkat çekmiştir.

Küflü örneklerin tümünde yapılan mikroskopik incelemelerde mevcut küflerin tipik spor başarıyla *Aspergillus* cinsi oldukları belirlenmiştir. Yapılan küflendirme denemelerinde ise

hiç bir örnekte mevcut küf sporlarının çimlenmediği ve üremediği saptanmıştır.

Aralık 1985 ile Haziran 1986 arasında çeşitli yerlerden aldığımız normal çerezlik, poşette çerezlik, fıstık ezmesi, Aralık 1985 - Ocak 1986'ya ait beş örneğin karışımı ile bu örneklerden ayrılan küflü tanelerde yapılan aflatoksin tayin denemeleri sonuçları Çizelge 1'de verilmiştir.

Çizelgenin incelenmesi ile görüleceği gibi 4 ve 7 nolu örneklerde aflatoksin B₁, 10, 20 ve 25 nolu örneklerde aflatoksin B₁, B₂, G₁ ve G₂, 13 nolu örnekte ise aflatoksin B₁ ve G₁'e ait lekeler gözetlenmiştir. Aynı şekilde 26 nolu Mart-Haziran karışımı ile tamamen küflü tanelerden oluşan 27 nolu örnekte de belirgin aflatoksin lekeleri tesbit edilmiştir.

Plakalara uygulanan doğrulama deneyinde ise 27 nolu örnekte aflatoksin G₁ dışında hiç bir leke gerekli renk değişimini göstermemiştir. Yani yalnızca bu örnekteki tek aflatoksin doğrulama deneyine cevap vermiştir. Diğer örneklerde ise 10 nolu örnek dışında hiç reaksiyon görülmemiş veya lekeler tamamen kaybolmuştur. 10 nolu örnekte ise doğrulama deneyi sonucunda sarı-yeşil renk yerine kahverengi renk gözlenmiştir.

Küflü tanelerde aflatoksin G₁ lekesinin doğrulama deneyine cevap vermesi miktarının oldukça fazla olmasına da bağlanabilir. Zira elde edilen G₁ lekesinin diğerlerinden daha büyük olması miktar olarak fazlalığını göstermiştir. Nitekim Di Prossimo (Heathcote ve Hibbert, 1978), yerfıstıklarında G₁'in B₁'den daha fazla olabildiğini ispatlamıştır.

Plakalarda saptanan ancak doğrulama deneyine cevap vermeyen bu şüpheli lekelerin, örneklerimizde bulunan bazı yabancı madde ve metabolitlerin varlığından ileri geleceği gibi, aflatoksinlerin ısı işlem sonucu kimyasal yapılarındaki değişiklikten olabileceği de düşünülmektedir. Nitekim, Gönül ve Boyacıoğlu (1985) nun bildirdiğine göre Bozkurt ve arkadaşları 1971 yılında Antepfıstıkları üzerinde yaptıkları bir araştırmada böyle bir sonuca varmışlardır.

Örneklerimizde toksine rastlanılmaması ve bazı örneklerimizde şüpheli durum gözlenmesi

Çizelge 1. Çerezlik yerfıstığı örneklerinin CB yöntemine göre aflatoksin içerikleri ve doğrulama deneyi sonuçları.

Örnek No.	Muhtemel Aflatoksin				Doğrulama Deneyi			
	B ₁	B ₂	G ₁	G ₂	B ₁	B ₂	G ₁	G ₂
2	—	—	—	—	—	—	—	—
3	—	—	—	—	—	—	—	—
4	+	—	—	—	a	—	—	—
5	—	—	—	—	—	—	—	—
6	—	—	—	—	—	—	—	—
7	+	—	—	—	—	—	—	—
8	—	—	—	—	—	—	—	—
9	—	—	—	—	—	—	—	—
10	+	+	++	+	b	b	b	b
11	—	—	—	—	—	—	—	—
12	—	—	—	—	—	—	—	—
13	+	—	+	—	a	—	a	—
14	—	—	—	—	—	—	—	—
15	—	—	—	—	—	—	—	—
16	—	—	—	—	—	—	—	—
17	—	—	—	—	—	—	—	—
18	—	—	—	—	—	—	—	—
19	—	—	—	—	—	—	—	—
20	+	+	++	+	a	a	a	a
21	—	—	—	—	—	—	—	—
22	—	—	—	—	—	—	—	—
23	—	—	—	—	—	—	—	—
24	—	—	—	—	—	—	—	—
25	+	+	++	+	a	a	a	a
26	+	+	++	+	a	a	a	a
27	+	+	++	+	a	a	+	a

a : Renk değişimi yok.

b : Renk koyulaşması.

üzerine çiğ yerfıstıklarına 15 g/kg oranında B₁ standardı ilave edilerek laboratuvarında üstü kapalı tava içinde kuru tuz ile kavurma işlemi uygulanmış ve böylelikle ısının toksin üzerine olan etkisi araştırılmıştır. Burada yapılan geri alma çalışmaları sonucunda toksinin % 65-70 gibi büyük bir kısmının kazanılmadığı görülmüştür. Ancak doğrulama deneyine cevap verdiği dikkati çekmiştir.

Yaptığımız çalışma sonucunda çerezlik yerfıstıklarında ortalama % 1 dolayında küflü tane bulunduğu, küflenmenin ise tarlada veya depolama sırasındaki kontaminasyon sonucu çiğ

yerfıstıklarında olduğu, küflenme ile beraber çok az oranda da olsa aflatoksinlerin de oluştuğu, tuzla kavurma ile gerek küflerin gerekse aflatoksinlerin önemli ölçüde tahrip olduğu böylece bulunabilecek aflatoksinlerin saptanmadığı veya şüpheli lekeler halinde kaldığı kanısına varılmıştır.

Ülkemizde tüketilen çerezlik yerfıstıklarında aflatoksine bağlı bir sorunun olmadığı söylenebilirse de gerek çiğ yerfıstıklarındaki aflatoksin durumunun gerekse kavurma işleminin aflatoksinler üzerine yaptığı etkilerin ve meydana gelen değişimlerin daha geniş bir şekilde araştırılması gerektiği görüşüne varılmıştır.

KAYNAKLAR

ALLCROFT, R., 1965. Aspects of Aflatoxicosis in Farm Animals. Mycotoxins in Foodstuffs. Ed. 6, N. Wogan. The N. I. T. Press, Cambridge, Massachusetts, 291 S.

ANONYMOUS, 1974. Braüerder OHG, Betriebsanleitung der Feuchtigkeits Bestimmer informationer, Duisburg BRD. S. 5.

ANONYMOUS, 1982 b-TPI Myc otoxin Training Manual section A 2, B 5 Overseas Development Administration 56/62 Gray's Inn Road, London, WCL x 8 LLV. A 2-5, A 5-9 S.

ANONYMOUS, 1985. Gıdalarıda Küfler ve Mikotoksinler Araştırma Projesi III, Mikotoksinlerin Analiz Yöntemleri, TÜBİTAK, Yay. No. 615-918.

BIÇIOĞI, M., 1980. Yerfıstığı ürününde Tarla, Hasat ve Depo Dönemlerinde Aspergillus niger von Tieghem v eAspergillus flaus Link Tarafından Oluşturulan Hastalık ve Aflatoksin üzerine Araştırmalar. Ç.Ü. Ziraat Fak. Bit. ki Koruma Böl. Doktora Tezi. 85 S.



Bir bankada ilk kez hesap açmak,
tasarrufa adım atmaktır.
İlk hesabı İş Bankası'nda açmak,
daha ilk adımda hesaba güven'i de
katmaktır.

TÜRKİYE İŞ BANKASI

"Paranızın, istikbalinizin emniyeti."